

Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon

ANNÉE SCOLAIRE 1902-1903. — N° 17

DES DIFFÉRENTS PROCÉDÉS
POUR LA
RECHERCHE DE L'ORIGINE DU SANG

ET EN PARTICULIER DE LA SÉRO-RÉACTION

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le lundi 1^{er} décembre 1902

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Charles MARCHETTI

Né à Zalana (Corse), le 29 avril 1876

Élève à l'École du Service de santé militaire



LYON

A. STORCK & C^{ie}, IMPRIMEURS-ÉDITEURS

8, rue de la Méditerranée

—
1902

DES DIFFÉRENTS PROCÉDÉS
POUR LA
RECHERCHE DE L'ORIGINE DU SANG

ET EN PARTICULIER DE LA SÉRO-RÉACTION

THÈSE

PRÉSENTÉE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Et soutenue publiquement le lundi 1^{er} décembre 1902

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

PAR

Charles MARCHETTI

Né à Zalana (Corse), le 29 avril 1876

Élève à l'École du Service de santé militaire



LYON

A. STORCK & C^{ie}, IMPRIMEURS-ÉDITEURS

8, rue de la Méditerranée

—
1902

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

MM. LORTET	DOYEN.
LACASSAGNE	ASSESEUR.
CROLAS	QUESTEUR.

Professeurs honoraires

MM. PAULET, CHAUVEAU.

Professeurs

	MM.
Cliniques médicales	{ LÉPINE. BONDET. BARD. PONCET.
Cliniques chirurgicales	{ JABOULAY. FOCHIER. GAYET.
Clinique obstétricale et Accouchements	GAILLETON.
Clinique ophtalmologique	PIERRET.
Cliniques des maladies cutanées et syphilitiques	WEILL.
Clinique des maladies mentales	MONOYER.
Clinique des maladies des enfants	HUGOUNENQ.
Physique médicale	CAZENEUVE.
Chimie médicale et pharmaceutique	FLORENCE.
Chimie organique et Toxicologie	LORTET.
Matière médicale et Botanique	TESTUT.
Parasitologie	RENAUT.
Anatomie	MORAT.
Anatomie générale et Histologie	TEISSIER.
Physiologie	AUGAGNEUR.
Pathologie interne	MAYET.
Pathologie externe	TRIPPIER.
Pathologie et Thérapeutique générales	POLLOSSON (Maurice).
Anatomie pathologique	ARLOING.
Médecine opératoire	LACASSAGNE.
Médecine expérimentale et comparée	COURMONT (J.).
Médecine légale	SOULIER.
Hygiène	CROLAS.
Thérapeutique	
Pharmacologie	

Chargés de cours complémentaires

Clinique des maladies des femmes	MM. POLLOSSON (A.), agrégé.
Maladies des voies urinaires	CHANDELUX.
Maladies des oreilles, du nez et du larynx	LANNOIS.
Propédeutique médicale	ROQUE.
Propédeutique chirurgicale	ROLLET.
Propédeutique de gynécologie	CONDAMIN.
Anatomie pathologique	DEVIC.
Physiologie	DOYON.
Accouchements	FABRE.
Botanique	BEAUVISAGE.

Agrégés

MM.	MM.	MM.	MM.
ROUX	SIRAUD	BÉRARD	VILLARD
COLLET	DURAND	SAMBUC	TIXIER
BOYER	PIC	BOUDIER	FABRE
BARRAL	PAVIOT	COURMONT (P.)	REGAUD
MOREAU	NOVÉ-JOSSERAND	CHATIN	CAUSSE, ch...
VALLAS			

M. BEAUDUN, Secrétaire.

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

MM. LACASSAGNE, président; HUGOUNENQ, assesseur;
MM. ROQUE, agrégé et COLLET, chargé de cours.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation ni improbation.

MEIS ET AMICIS

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

M. le Professeur LACASSAGNE

Professeur de médecine légale à l'Université de Lyon
Officier de la Légion d'honneur

INTRODUCTION

Dès que Wassermann et Schütze d'un côté, Uhlenhut de l'autre, eurent appelé l'attention sur le parti que pourraient tirer les médecins légistes du principe sur lequel reposent les sérums précipitants, plusieurs expérimentateurs s'empressèrent de faire des communications, de décrire des méthodes de recherche sur l'origine du sang.

On alla même plus loin ; on appliqua ce moyen de diagnostic dans un procès retentissant, ce qui donna lieu à des discussions assez vives dans des journaux scientifiques.

C'est alors que M. le professeur Lacassagne nous conseilla de faire des expériences et de nous livrer à une étude d'ensemble sur la question.

Pendant l'année que nous avons passée dans son laboratoire et durant laquelle nous avons pu profiter plus particulièrement de son enseignement, il nous a constamment aidé de ses conseils et nous a maintes fois donné des preuves de sa bienveillance.

Il nous fait aujourd'hui l'honneur d'accepter la présidence de notre thèse.

Nous le prions d'agréer ici l'expression de notre respect et de notre gratitude.

M. le docteur Étienne Martin, chef des Travaux, a bien voulu nous apporter son entier concours jusque dans les moindres détails de notre étude expérimentale.

Qu'il reçoive l'assurance de nos sentiments les plus dévoués.

Dans cette étude, nous commencerons par passer en revue les différents procédés qu'on a successivement employés pour constater la présence du sang, ainsi que ceux qu'on emploie actuellement.

Passant ensuite à l'étude proprement dite de la question, nous exposerons le principe de la séro-réaction, les résultats obtenus par les divers expérimentateurs, ainsi que la technique qu'ils ont suivie, ce que nous avons fait nous-même au laboratoire, enfin nous terminerons par un chapitre sur l'état actuel de la question.

PREMIÈRE PARTIE

HISTORIQUE

Reconnaître une tache de sang, en déterminer l'origine, est d'une importance capitale en médecine légale.

Dire si des taches trouvées sur une arme, sur des vêtements ou sur le corps d'un accusé, sur des objets quelconques, sont dues à du sang; dire si elles sont d'origine humaine ou animale est d'une importance extrême pour l'accusation. Des conclusions formulées par le médecin légiste dépend souvent l'issue d'un procès capital.

C'est là une des questions à résoudre qui se présenteront le plus souvent dans la pratique du médecin légiste. Combien de fois le juge d'instruction, croyant avoir fait la preuve d'un crime, se heurte aux dénégations de l'accusé qui affirme que les tâches examinées proviennent du sang d'un animal domestique, cochon, chien, lapin, poulet, etc. C'est alors qu'intervient le rôle du médecin légiste. C'est de lui qu'on attend la solution; c'est sur son affirmation que se basent les magistrats et les jurés pour acquitter ou condamner.

Longtemps cette question a exercé la sagacité et la patience du monde scientifique.

Les solutions qu'on a proposées jusqu'à ce jour n'ont donné que des résultats incertains; quelques expériences toutes récentes de physiologie générale semble ouvrir une voie nouvelle qui paraît devoir enfin trancher cette question si controversée.

Rappelons brièvement ce qui a été fait jusqu'ici et quelles étapes on a dû parcourir pour arriver aux procédés qui aujourd'hui même sont les seuls admis toutes les fois qu'il s'agit de déterminer la nature d'une tache de sang.

On peut diviser les recherches faites et les rattacher à trois systèmes différents.

Tout d'abord on s'en tenait aux réactions chimiques, ensuite on étudia les éléments morphologiques, puis enfin on essaya d'accumuler les preuves que [pouvaient fournir les deux méthodes.

*
* *

En 1848, Orfila résume les connaissances acquises relatives à la détermination des taches de sang. On recherche l'albumine, la fibrine, une matière colorante particulière, l'azote et le fer. Ces caractères, isolés, n'ont aucune valeur, réunis, ils sont pathognomoniques.

Jusqu'en 1829, on se contente d'affirmer la présence du sang; on ne s'occupe pas d'en rechercher l'origine.

A cette époque, Barruel s'aperçoit que « le sang traité par la moitié de son poids d'acide sulfurique dégage une odeur caractéristique de l'espèce animale en question, odeur rappelant celle de la sueur ».

Sedillot, dans son *Manuel de médecine légale*, rapporte un cas où « trois experts déclarèrent que le sang qui leur était soumis appartenait à l'espèce humaine : deux d'entre eux affirmèrent que c'était celui d'une femme, le troisième penchait vers l'opinion contraire. »

Cependant un procédé qui laisse tant de place à la personnalité de l'observateur ne peut être érigé en méthode de diagnostic médico-légal. Tous les nez ne peuvent servir de réactif, disait Raspail.

*
* *

Prévost et Dumas étudient la forme et mesurent les dimensions des globules.

En 1842, Mandl essaya de distinguer le sang des ovipares de celui des mammifères : forme ovulaire des globules rouges et présence d'un noyau chez les premiers, forme circulaire et absence de noyaux chez les seconds.

D'un autre côté, il observa que le diamètre des hématies est de 7μ à 7.5 chez l'homme, et qu'il va en diminuant : chez le lapin (6.9), le rat (6.3), le cheval (5.6).

En 1857, Charles Robin crut enfin, en donnant des chiffres précis, avoir tranché définitivement la question. La chimie est reléguée au second plan.

Il étudie au microscope les éléments morphologiques du sang. Il détermine leur volume et leur dimension, il fixe comme moyenne 6 à 7μ de diamètre aux hématies de l'homme.

Toutefois, il ne réussit pas à convaincre tout le monde. La même année, Virchow dit : Je ne crois pas qu'un micrographe soit jamais autorisé à faire dépendre la vie

d'un homme de l'appréciation encore si incertaine du coefficient de dessiccation des globules, la dessiccation étant soumise à tant de conditions variées.

En 1865, Roussin, pharmacien militaire, fait remarquer qu'il faut être réservé dans l'appréciation de $1/500$ à $1/600$ de millimètre, qui dépendent d'alternatives de sécheresse ou d'humidité auxquelles sont exposées les globules, etc.

Blandlot, professeur à Nancy, fut du même avis.

Cependant, malgré ces avis contraires, une commission, formée de MM. Mayet, Mialhe, Cornil et Lefort, est déléguée par la Société de Médecine légale de France, pour étudier la question.

Après avoir donné un tableau indiquant les dimensions des globules rouges du sang chez l'homme et chez divers animaux domestiques, la Commission conclut dans une note publiée en 1873 « que l'expert mesurera les globules et pourra ainsi affirmer qu'il s'agit ou non de sang humain. »

Tous ceux qui s'occupaient de la question n'acceptèrent pas ces conclusions:

En 1874, Rabuteau fait remarquer que le diamètre des globules de l'homme est de 0,0075, celui du chien de 0,0073 et que les hématies sont toujours plus ou moins déformées. Il déclare le diagnostic différentiel impossible.

En 1876, Malinin de Tiflis étudie et approfondit la mensuration des globules et conclut qu'on ne peut distinguer le sang de l'homme de celui du chien, du lapin ou du cochon.

En 1877, le professeur Cauvet pense qu'on peut affirmer la nature du sang humain par la grandeur des globules.

En 1879, Malassez dans un rapport très intéressant, dit

qu'on peut, par l'absence de noyau, affirmer que c'est du sang de mammifère, mais qu'on ne peut pas dire si c'est du sang d'homme ou d'animaux domestiques.

En 1880, le professeur Morache expose les minutieuses recherches qu'il a dû faire pour reconnaître le sang d'oiseau, et fait de sages réserves relativement à la possibilité de déterminer la nature du sang.

En 1882, Vibert publie un travail et conclut : Il est toujours impossible d'affirmer qu'une tache est formée de sang humain. Il est seulement permis de dire dans certains cas qu'elle peut provenir de sang humain.

Briand et Lhaudi se contentent de commenter la mémoire de Robin et concluent d'ailleurs d'une façon erronée, que les taches de sang sur étoffes de lin, chanvre et coton sont les plus favorables à la recherche des globules. Dragendorff fait un résumé du travail de Roussin.

Taylor n'admet pas qu'on puisse distinguer le sang de l'homme de celui du chien, du lièvre et du lapin.

Hoffmann doute qu'on puisse distinguer les globules humaines de ceux des mammifères. Clément dit que les mensurations des éléments du sang ne peuvent être que contingentes, excepté dans le cas où il s'agit de distinguer le sang de l'homme de celui des animaux à globules elliptiques. Tourdes accorde une grande valeur à la mensuration des globules de sang frais, mais fait des réserves pour les globules desséchés.

Vibert termine ainsi son article du *Nouveau Dictionnaire de médecine et de chirurgie pratique* : Pour être conforme aux données scientifiques, l'expert devra conclure ainsi : telle tache n'est pas constituée par le sang de tel animal (bœuf, mouton, chèvre, suivant le dire de

l'accusé), elle provient de l'homme ou d'un mammifère à globules de dimensions voisines (chien, lapin).

On voit combien la question est encore incertaine, dit Masson (1885). Certains en sont à prêter à certains liquides la propriété de rendre aux globules leur mollesse naturelle, avec leur forme circulaire, aplatie, biconcave ; d'autres leur reconnaissent seulement la propriété de dissocier, d'isoler les globules en leur état ; d'autres en trouvent non sans peine deux à trois dans une préparation. Pour les uns les globules reprennent leur forme primitive, on dirait du sang frais ; pour d'autres ils demeurent irréguliers, déformés, méconnaissables. Reconnaître du sang humain, et en affirmer la présence est facile pour les uns, impossible pour d'autres.

Et Masson, dans son Mémoire sur l'origine du sang, de 1885, tout en faisant tant de réserves, admet que les hématies dont le diamètre est compris entre $1/125$ et $1/135$ de millimètre, appartiennent à l'homme ou au chien, au lapin ou au cobaye, et que celles des autres animaux mesurent plus de $1/140$ de millimètre.

Plus récemment en 1899, Daubler a repris l'étude des dimensions des hématies. Après avoir fait des recherches très précises sur le sang frais, il arrive à établir que les différences entre les hématies de l'homme, du porc et du lapin, ne dépassent pas $3\ \mu$, et que celles existant entre les hématies de l'homme et du chien n'excèdent pas $1\ \mu$. Si l'on considère, en présence de ces résultats que la dessiccation du sang sur des supports divers, l'action de l'humidité, de différentes températures altèrent les hématies dans une mesure qu'il est impossible de déterminer mathématiquement, on en arrive à conclure que le procédé de

mensuration des globules rouges doit être rejeté en pratique.

Déjà, en 1885, M. Florence (thèse de Lyon) conclut ainsi au sujet de l'espèce animale : les conclusions ne sont jamais comme affirmation que probables, même dans les cas les plus heureux, mais elles peuvent souvent être certaines comme négative, et la plus grande réserve doit s'imposer à l'expert : nous estimons que ce n'est pas un petit mérite que de dire simplement en ces questions si délicates et si grosses de conséquences : « Je ne sais pas. »

*
* *

Les réactions chimiques et la simple mensuration des globules n'ayant pas beaucoup éclairci la question, en 1893, M. le professeur Corin pensa pouvoir baser un diagnostic différentiel par l'examen des globules du sang.

Jusqu'à cette époque, en effet, les granulations appelées neutrophiles par Ehrlich, et qu'on trouve dans le corps cellulaire des leucocytes, n'avaient été observés que dans le sang de l'homme. Mais, en 1894, Tamassia, en 1895, Ilberg, ont réussi à démontrer l'existence de ces granulations dans le sang d'autres espèces animales.

Cependant, Hirschfeld reprit ces recherches en 1897 et posa les conclusions suivantes : « Les granulations neutrophiles existent aussi dans le sang animal, mais dans aucune espèce examinée jusqu'à présent elles ne sont comparables aux granulations des leucocytes humains, quant à leur dimension, leur répartition et leur pouvoir de fixer la matière colorante ». A côté de ces différences, cet auteur en signale d'autres existant dans la structure du

réticulum protoplasmique des leucocytes humains et animaux, mais celles-ci ne sont pas assez tranchées pour qu'un diagnostic basé sur le nombre des globules blancs ait quelque certitude (Eng. Stockis).

*
* *

Après avoir étudié les éléments figurés du sang, hématies et leucocytes, on porta les recherches sur une substance chimique fixée sur les globules sanguins, l'hémoglobine.

On avait remarqué que, placée dans certaines conditions, cette substance donne des cristaux dont la forme varie selon l'espèce animale. Hüfner, Misuraca basèrent le diagnostic sur la forme de ces cristaux : prismes à quatre faces chez l'homme, lamelles rhombiques chez le cheval, etc. Le diagnostic par la forme des cristaux est possible, mais dans des cas exceptionnels.

De leur côté Moncton-Copeman, Filumosi-Guelli, remarquèrent que l'hémoglobine humaine est très altérable et qu'on n'obtient jamais avec elle que des cristaux d'hémoglobine réduite et encore très difficilement après dix-huit à soixante-douze heures, tandis que chez les animaux on pouvait encore obtenir facilement des cristaux d'oxy-hémoglobine après plusieurs jours et même après deux ou trois mois. Toutefois ces constatations n'apportèrent aucun élément nouveau de diagnostic.

En 1881 Morache n'obtient rien par la recherche de l'effet de la lumière polarisée sur les cristaux d'hémoglobine. Il étudia alors avec Eyssautier les cristaux de chlorhydrate d'hématine ou cristaux de Teichmann. Ils

préparèrent de la même façon que le chlorhydrate, l'iodohydrate et le bromhydrate d'hématine, le cyanure d'hématine et obtinrent des cristaux ayant tous à peu près la même forme, l'hématine elle-même restant dans le sang de toutes les espèces examinées, sous la forme de granulations amorphes non caractérisables.

En 1897, Koerber et Krüger constatèrent que l'oxyhémoglobine est réduite plus ou moins facilement suivant les différentes espèces et que cette différence de résistance vis-à-vis des acides et des alcalis tient probablement au temps employé par les réactions pour transformer l'hémoglobine en hématine acide ou alcaline.

Magnanini partit de ce fait pour arriver à un diagnostic différentiel du sang de différentes espèces animales.

Il prend des solutions de sang d'animaux différents, dose par la spectrophotométrie la teneur en oxyhémoglobine, puis les additionne d'une solution normale de potasse caustique.

Il détermine ensuite le temps variable pour chacune d'elles nécessaire à la disparition du spectre de l'oxyhémoglobine.

Ce temps oscille entre une minute et plusieurs heures

Or, il résulte de ses expériences que le sang humain se réduit le plus vite, tandis que celui de veau met beaucoup plus de temps.

Il conclut de là que pour déterminer l'origine de l'hémoglobine considérée, il suffirait d'évaluer la durée de la réaction aboutissant à l'appareil spectroscopique aux raies d'absorption de l'hématine alcaline.

Mais Ziemke a repris ces expériences et a montré que la réaction prenait un temps variable, pour une même

espèce animale, dans des limites assez larges, suffisamment pour interdire un diagnostic précis, quant à la provenance du sang considéré.

On voit par le court exposé de ce qui a été tour à tour proposé pour diagnostiquer le sang humain que ni les réactions chimiques, ni l'examen des éléments figurés, ni les caractères de la matière colorante ne donnent un élément suffisamment précis et sûr pour la solution de la question.

Il nous semble utile, avant de terminer ce court exposé de montrer où en est la question en citant les conclusions posées par M. le professeur Florence dans le *Vade mecum* (2^e édition, 1900), de M. le professeur Lacassagne :

La tache est-elle formée de sang ?

Non, si on n'a pas obtenu la réaction de Van Deen (1).

Probablement, si on l'a obtenue.

Certainement, si on a obtenu les spectres deux par deux, si on a isolé des globules bien caractérisés, se dissolvant dans l'eau (caractère distinctif des spores), si on a obtenu des cristaux d'hémine (2). Un seul des trois signes suffit.

La tache est-elle formée de sang humain ?

Probablement, si de nombreuses mensurations faites dans de bonnes conditions, ont donné comme moyenne 0.0077 ; *mais jamais certainement même dans les cas les plus favorables.*

(1) Essence de thérébentine et teinture de gâïac fraîche.

(2) Par la chaleur (60°), NaCl et acide acétique glacial.

DEUXIÈME PARTIE

CHAPITRE PREMIER

SÉRO-RÉACTION

Tous les procédés que nous venons d'énumérer permettent tout au plus d'affirmer la présence du sang dans une tache, mais aucun ne donne le moyen de dire l'origine de ce sang, à quelle espèce animale il appartient. Aussi on comprend avec quel empressement, on peut dire avec quel enthousiasme, tous accueillirent, les médecins légistes en particulier, le procédé nouveau que proposait Uhlenhut, se fondant sur la découverte, par Bordet et Tchistowitch des sérums précipitants.

Le principe est le suivant : si, dans le péritoine d'un lapin, on injecte du sang ou du sérum d'un autre animal, au bout de quelque temps, le sérum de ce lapin acquiert la propriété de précipiter le sérum de cet animal ou d'un animal de même espèce.

* *

Déjà, en 1892, Landois et Büchner, en étudiant les propriétés du sérum sanguin, avaient constaté ce fait que le sérum de certains animaux détruit les hématies d'autres espèces animales et que cette réaction dissolvante est spécifique; les hématies de l'homme, par exemple, n'étant détruites que par le sérum de telles espèces animales.

Aussi songèrent-ils à baser sur cette constatation un procédé de diagnostic de l'origine de ces hématies.

Mais ici il faut remarquer que cette dissolution des hématies se manifeste surtout en ce que l'hémoglobine quitte la paroi globulaire pour passer dans le liquide ambiant et apparaît alors à l'état « laqué ». Or, ce phénomène n'est possible que quand il s'agit de sang frais, car si le sang s'altère, les modifications *post mortem* de la paroi globulaire entraînent la mise en liberté de l'hémoglobine qui se dissout dans son propre sérum.

D'ailleurs cette action globulicide est assez peu prononcée pour une dilution de sérum normal.

La question en était là quand les travaux de Bordet en 1895 vinrent jeter un jour tout nouveau sur la question.

Par ces expériences faites à l'Institut Pasteur, Bordet montra en effet qu'on peut artificiellement exalter cette propriété globulicide d'un sérum donné, par la vaccination, et que l'on peut immuniser un animal aussi bien contre les hématies d'une autre espèce animale que contre les bactéries.

Ainsi, le sérum d'un animal qui a reçu par voie sous-cutanée ou péritonéale du sang défibriné jouit de la pro-

priété de dissoudre les hématies des animaux de l'espèce qui a fourni le sang pour les injections immunisantes. Ce pouvoir dissolvant est spécifique, c'est-à-dire que les matières dissolvantes n'agissent que sur les hématies de l'animal contre le sang duquel l'immunisation a été pratiquée.

D'un autre côté, les D^{rs} Sérafino Belfanti et Tito Carbone, à la suite de leurs recherches sur la « Production de substances toxiques dans le sérum d'animaux inoculés avec du sang d'autres espèces animales », ont formulé la loi suivante :

Le sérum d'un animal d'espèce A qui reçoit dans le péritoine du sang défibriné d'un animal d'espèce B, contient des substances qui ont une action toxique pour les animaux de l'espèce B, qui n'en ont aucune pour ceux de l'espèce A, et qui ont une action faiblement toxique pour ceux des autres espèces X. (Voir *Giornale della R. Accademia di medicina di Torino*, LXI fascicolo, Agosto 1898).

Se basant surtout sur les expériences de Bordet, Deutsch de Budapest a proposé récemment (en 1900) une méthode de diagnostic.

Il immunise un animal de laboratoire contre les hématies d'un autre animal et il en prépare ainsi plusieurs qui serviront de réactif pour une espèce donnée. Il suffira alors de prélever la tache de sang dont on veut connaître l'origine, de l'étendre de la solution physiologique à 9 p. 1000 et d'y ajouter quelques gouttes des différents sérums retirés des animaux réactifs. « Le sérum qui dissout le plus rapidement les hématies indique absolument et à coup sûr l'origine de ces globules rouges. » Si la tache est d'origine humaine, ce sera le sérum de l'animal

injecté au sang humain, seul, qui provoquera la dissolution des hématies et l'apparition de l'état laqué caractéristique des solutions d'hémoglobine.

Mais on peut faire à cette méthode les mêmes objections qu'à celle de Landois et Büchener; du moment qu'il s'agira de sang desséché où l'intégrité des parois globulaires aura été compromise, on ne retirera aucun avantage de l'application de cette méthode; il faudra encore ici n'opérer que sur du sang absolument frais.

*
* *

Bientôt on découvrit d'autres propriétés au sérum sanguin. En 1899, Bordet et Tschistowitch font remarquer que le sérum des animaux immunisés jouit du pouvoir d'agglutiner en paquet les hématies et de plus, mélangé au sérum du sang qui a produit l'immunisation, il le précipite après un certain temps, alors que le sérum d'un animal non immunisé ne donne aucun trouble dans ce dernier.

Ces faits furent le point de départ des recherches tentées pour arriver au diagnostic des taches de sang. Avant de passer aux expériences faites à ce sujet, nous allons exposer les diverses théories qu'on a proposées pour expliquer le mécanisme intime de ces phénomènes.

*
* *

Büchner explique la propriété globulitique par la présence dans les sérums de substances albuminoïdes particulières, qu'il appelle alexines.

Bordet explique les propriétés dissolvantes et agglutinantes par la présence de la substance hémolytique ou hémolysine qui serait à l'état libre et actif dans le sang circulant.

En effet si l'on injecte à un animal A dans le péritoine ou sous la peau du sang d'un animal B d'espèce différente, le sérum de l'animal injecté contracte, entre autre propriété nouvelle, celle de dissoudre spécifiquement *in vitro* les globules rouges de B. Un chauffage d'une demi-heure à 55° abolit cette propriété, mais on la restitue intégralement par l'addition au sérum inactivé de A d'un peu de sérum de *même espèce animale et frais*.

De ces notions expérimentales résulte que la substance hémolytique de Bordet ou hémolysine d'Erlich est constituée de deux parties : l'une, spécifique, *apparue* à la façon des anticorps consécutivement à l'injection de sang défibriné contenant les stromas globulaires étrangers, c'est la *substance sensibilisatrice* de Bordet, l'Immunkörper, d'Erlich ; l'autre, normalement présente en quantité identique ou peu différente (Von Dungern) dans le sérum de l'animal réactif et commune à toutes les hémolysines qu'on y peut faire apparaître. C'est *l'alexine* de Bordet, addiment d'Erlich.

« L'action dissolvante du sérum actif sur les globules est due, dit Bordet, à l'influence de deux substances : l'une anticorps, appartient en propre au sérum actif ; l'autre, alexine, est répandue aussi bien dans les sérums neufs que dans les sérums actifs.

La première agit en sensibilisant les globules à l'action de la seconde.

Ces faits doivent être rapprochés de ceux que nous

avons établis pour ce qui concerne le choléra-sérum et le vibrion cholérique.

L'injection de sérum antihépatique à un animal neuf (de même espèce que celui dont le sérum actif provient), provoque chez cet animal l'apparition d'un pouvoir globulicide du sérum. La production de ce pouvoir globulicide doit être expliquée conformément à la manière de voir que nous avons émise en 1895 et qui est relative à la cause du pouvoir bactéricide constatable dans le sérum d'animaux injecté de choléra-sérum.

Ce pouvoir globulicide apparaît grâce à la rencontre dans l'organisme de la matière propre au sérum actif avec l'alexine que cet organisme possédait avant toute intervention.

« Ces matières antihépatiques spécifiques, résistant à la température de 55° et qui caractérisent le sérum actif, se fixent avec énergie sur les globules qu'elles peuvent impressionner. Le lavage n'enlève pas aux globules les caractères (agglutination, sensibilisation à l'alexine) qu'ils ont acquis par le contact avec ces substances.

« L'analogie avec ce qui se passe pour les microbes est complète à ce point de vue encore. Les alexines de provenances diverses lesquelles se comportent à peu près de même dans leur action sur un même microbe (quelle que soit l'espèce animale qui les ait fournies), présentent entre elles des différences lorsqu'on les étudie au point de vue de leur action sur les globules. Par exemple, la sensibilisation des globules à l'action d'alexines de certains animaux n'implique pas nécessairement que ces globules soient devenus facilement destructibles sous l'influence de toutes les alexines.

« Ces sérums antihématiques présentent aussi un pouvoir antitoxique bien constatable ; ils peuvent protéger les globules contre l'agglutination et la dissolution par du sérum neuf identique à celui qu'on a injecté aux animaux producteurs du sérum actif.

« Il existe des analogies très nettes au point de vue de l'action de la chaleur entre les matières actives des sérums spécifiques et celles douées de propriétés comparables, qui existent dans le sérum neuf ; il en existe aussi à ce point de vue entre celles qui influencent les microbes et celles qui impressionnent les globules rouges. L'action de la chaleur à 60° ou 70° affaiblit la propriété agglutinante et la propriété sensibilisatrice.

« La destruction par l'alexine peut s'observer sur des globules qui n'ont pas été agglomérés. Le fait que des globules sont agglomérés par un sérum n'implique pas nécessairement qu'ils sont sensibilisés à l'action des alexines. »

Quant au phénomène intime de l'agglutination elle-même on se trouve en présence de plusieurs hypothèses.

Grüber pense que l'agglutination altère et rend visqueuse la membrane du micro-organisme et par là les microbes adhèrent entre eux. Il en serait de même de la membrane ou stroma globulaire quand il s'agit d'hématie.

Pour Nicolle, l'agglutination consiste dans la coagulation et la coalescence des couches externes des microbes agglutinables sous l'influence du sérum agglutinant.

Paltauf croit que les microbes sont entraînés mécaniquement dans les mailles d'un coagulum né dans le liquide ambiant en dehors des microbes et dû à la réaction de l'agglutinine sur la matière microbienne agglutinable.

Dineur enfin, attribue à la présence de cils une importance tout à fait essentielle dans l'agglutination.

Mais toutes ces théories n'expliquent pas comment l'agglutination est possible dans un liquide très pauvre en micro-organismes, or l'agglutination se produit dans les liquides très limpides.

Il est plus vraisemblable de rapprocher l'agglutination de la coagulation et de penser à des changements d'adhésion et de condensation moléculaires qui amènent les précipités.

D'après Bordet on doit admettre que les agglutinines (d'où viennent-elles ? comment se forment-elles ?) en se fixant sur les éléments agglutinables amènent des modifications dans les attractions moléculaires qui unissent ces éléments soit entre eux, soit avec le liquide ambiant.

Le phénomène total de l'agglutination doit être divisé en deux phases dont on peut expérimentalement produire la première (période de l'impression par agglutination des éléments encore isolés) sans provoquer la seconde (période de l'agglutination proprement dite). Dans la première phase seulement la nature propre des éléments intervient. Dans la seconde phase, les particules, obéissant à des attractions moléculaires peuvent présenter dans leur agglutination des particularités qu'on retrouve dans l'aggrégation des particules minérales.

Les deux temps de l'agglutination peuvent d'ailleurs être réalisés isolément :

Si l'on agite dans de l'eau distillée des amas de microbes agglutinés, bien lavés à l'eau distillée, les amas désagrégés ne se reforment plus. Pour qu'il y ait de nouveau aggro-

mération, il suffit d'ajouter du NaCl jusqu'à concurrence de 6 0/0.

D'où la conclusion que les microbes qui ont subi l'action de l'agglutinine se trouvent placés dans des conditions d'équilibre avec le liquide qui les baigne. Si dans ce liquide la teneur en sels ou autres principes dissous est telle que la pseudo-solution n'est pas possible, il y a rupture d'équilibre et agglomération.

Pour Bordet, les phénomènes d'agglutination se rapprochent donc beaucoup des phénomènes de coagulation.

En 1900, Nolf, d'après des expériences publiées dans les Annales de l'Institut Pasteur, essaya de montrer l'indépendance des trois propriétés sensibilisantes, agglutinantes et précipitantes. Ayant expérimenté sur des lapins auxquels il avait fait des injections de sang défibriné de poule, il arriva aux conclusions suivantes :

« Les trois réactions précipitantes, agglutinantes et sensibilisantes sont nettement distinctes l'une de l'autre tant en ce qui concerne les propriétés de leur produit qu'au point de vue de son origine. L'action de ce produit est spécifique, c'est-à-dire qu'il porte exclusivement son action sur l'élément producteur.

« Divisons le sang en sérum et globules : la substance précipitante, due à l'injection de sérum seul agit sur le sérum, non sur les globules.

« L'agglutination spécifique et l'anticorps produit par la vaccination par les globules isolés portent leur action sur ces derniers uniquement.

« Dans les globules la partie seule active dans la production de l'agglutinine c'est la paroi globulaire ; c'est encore elle qui est intéressée dans l'agglutination.

« Au contraire, le contenu cellulaire produit l'anticorps et c'est probablement dans l'action de cet anticorps sur le contenu cellulaire qu'il faut voir la cause de l'action sensibilisante de l'anticorps sur la globulolyse.

« Dans le sérum c'est la globuline seule qui entre en jeu lors de la formation de la substance précipitante, c'est uniquement elle qui est précipitée. »

Cette dernière proposition avait une grande valeur si elle était exacte car elle permettait d'en tirer un moyen plus facile pour immuniser les animaux devant donner le sérum réactif.

Voyons comment Nolf essaya de prouver le rôle de la globuline.

S'étant posé la question de savoir si c'était la globuline ou l'albumine, ou les deux ensemble qui donnaient la réaction précipitante, il choisit pour ses expériences le sérum de cheval et le lapin,

Du sérum de cheval il sépare la globuline et l'albumine par le procédé suivant : « La globuline a été séparée de l'albumine par saturation du sérum au moyen de sulfate magnétique à 30° et le précipité de globuline purifié par une dissolution suivie de reprécipitation au moyen du même sel ; l'albumine a été obtenue en ajoutant près de 1 p. 100 d'acide acétique au filtrat de la précipitation de la globuline, après refroidissement et éloignement de l'excès de sulfate magnésique. Une dialyse de huit jours dans l'eau chloroformée a débarrassé les solutions de leur excès de sel. Les liquides neutres furent alors additionnés de 1 p. 100 de NaCl et stérilisés par le chauffage à 56° pendant huit jours, une demi-heure tous les jours. Leur

teneur en globuline ou en albumine fut dosée au polarimètre.

Nolf expérimenta sur trois lapins : l'un, A, fut traité avec du sérum de cheval (injection d'une quantité totale de 1 gr. 81 d'albuminoïdes, dont 1,14 de globuline et 0,67 d'albumine) ; l'autre, B, fut traité par une solution de globuline préparée d'après le procédé exposé plus haut (injection d'une quantité totale de 2.91 de globuline) ; le troisième, C, fut injecté avec une solution d'albumine (2.7 d'albumine).

Ayant ensuite préparé du sérum de chacun de ces trois lapins, il obtint un précipité caractéristique avec le sérum de A et de B (plus marqué avec celui de B), mais il n'obtint rien avec celui de C.

« On pouvait donc conclure, dit-il, que la réaction précipitante est la réponse de l'organisme à l'injection d'une catégorie bien déterminée des substances albuminoïdes du sang ; que c'est la globuline seule qui le produit à l'exclusion de l'albumine ».

Puis il démontra que même « dans le sérum de cheval précipité par le sérum actif, c'était la globuline qui était la partie précipitée ».

Et, pour le démontrer, il fit l'expérience suivante : il mit en présence le sérum de A, de B et de C avec les solutions de globuline et d'albumine dont il s'était servi pour les injecter : C ne donna rien ; avec A et B, la solution d'albumine resta claire et limpide, tandis que les solutions de globuline donnèrent un précipité.

D'un autre côté, Nolf fait remarquer que les réactions chimiques nécessaires pour isoler la globuline ne durent pas changer sensiblement sa constitution chimique, vu

que le sérum de lapin traité par une solution de globuline se comportait vis-à-vis du sérum de cheval de la même façon que le sérum de lapin traité par le sérum complet de cheval.

Partant des conclusions auxquelles était arrivé Nolf, le professeur Corin sépara la paraglobuline du liquide ascitique humain et l'injecta à un chien et à un lapin ; il obtint ainsi un sérum actif en présence des solutions de sang humain. « Au point de vue pratique, dit Stokis, ce fait présente une notable importance ; on peut, en effet, préparer très facilement cette globuline immunisante en précipitant du liquide d'ascite par le sulfate magnésique à saturation à 40°, la conserver pendant un temps très long soit à l'état sec, soit en dissolution dans l'eau additionnée d'une goutte de chloroforme ; tandis que le sang humain-vaccin doit être fraîchement extrait pour chaque injection immunisante. »

Mais cette dernière remarque n'est peut-être pas tout à fait exacte, vu que beaucoup d'expérimentateurs ont pu immuniser des lapins avec des solutions de sang desséché et conservé sur du papier filtre et des lames de verre (C. Binda et Nuttal).

Corin poussa ses expériences plus loin. Du sérum d'un chien vacciné contre le sang humain, il précipita par le sulfate magnésique la paraglobuline qu'il conserva sur papier filtre pendant deux mois à la température ordinaire. Puis reprenant cette paraglobuline avec du sérum physiologique, il constata que cette solution mise en présence de sang humain filtré donnait la séro-réaction.

« Que faut-il conclure ? dit Stokis. Faut-il admettre l'identité de l'alexine de Büchner, précipitine des auteurs

français, avec la paraglobuline du sérum, ou bien doit-on croire que la précipitine est seule active et s'est trouvée mêlée à la globuline dans la précipitation du sérum par le sulfate magnésique? »

Nous verrons plus loin les conséquences pratiques qu'on peut tirer des conclusions auxquelles sont arrivés Nolf et Corin.

Poursuivant des recherches dans le même ordre d'idées. Carrara a remplacé la globuline par les nucléo-protéides retirés des organes viscéraux de différents animaux. D'après lui ces substances possédant une organisation plus complexe doivent remplir un rôle prépondérant dans l'accomplissement des multiples phénomènes physiologiques.

Après avoir préparé les nucléoprotéides par macération de reins frais de chiens, d'après la méthode de Woolridge, il les injecte à des lapins. Au bout de la cinquième injection il constate que le sérum réactif obtenu précipite seulement les solutions de sang de chien. Les solutions de sang de bœuf et de sang de lapin donnent bien un léger trouble, mais qui ne peut pas être confondu avec le précipité floconneux, caractéristique obtenu avec la solution de sang de chien.

Ces nucléoprotéides peuvent être desséchées dans le vide ou par l'acide sulfurique, conservées pendant un temps assez long sans perdre aucunes de leurs propriétés. On n'a plus qu'à les dissoudre au moment de faire les injections.

Carrara insiste sur les avantages pratiques que présente cette méthode.

Ses expériences n'ont porté que sur les animaux, vu qu'il paraît assez important de se servir d'organes viscéraux fraîchement enlevés.

CHAPITRE II

EXPÉRIENCES.

Cette propriété qu'acquiert le sérum d'un animal vacciné de réagir par la précipitation, vis-à-vis du sérum du sang vaccin, se manifeste également vis-à-vis d'autres albuminoïdes.

Déjà en 1900, Uhlenhut et Snyers avaient obtenu l'immunisation contre la peptone, l'albumine du blanc d'œuf ; Fisch et Wassermann obtinrent, par injection de lait de femme, de vache ou de chèvre, des sérums précipitant la caséine de ces différents laits exclusivement. Le dernier auteur basait même sur ces résultats un procédé biologique pour différencier les diverses albuminoïdes.

Mais les expériences faites dans le but bien déterminé de diagnostiquer l'espèce animale à laquelle peut appartenir le sang trouvé dans une tache datent seulement de 1901.

Uhlenhut fut le premier qui attira l'attention là-dessus et ses expériences datent du 7 février 1901.

Quelques jours plus tard, Wassermann et Schütze publièrent une note relatant leurs expériences et arrivant

aux mêmes conclusions. Il n'est pas douteux qu'ils avaient travaillé à l'insu l'un de l'autre; Uhlenhut en effet, avait injecté du sang humain défibriné, tandis que Wassermann s'était servi de sérum sanguin.

En peu de temps parurent d'autres notes de différents auteurs.

Le 28 février Stern fit une communication : *Sur le diagnostic du sang humain par un anti-sérum.*

A la fin du mois de mars, C. Binda fit paraître le résultat d'expériences qu'il avait faites dès qu'Uhlenhut avait publié ses premiers résultats.

Puis ce furent les travaux de Mertens, Dieudonné, Stockis, Ogier et Herscher, Ziemke, qui tous étaient d'accord pour dire que le principe était exact.

Chacun d'eux avait étudié la question à un point de vue différent et avait suivi des méthodes diverses ; mais en somme le résultat des expériences qu'ils avaient faites ne faisait que confirmer le principe de la séro-réaction.

Passons maintenant à l'étude des procédés adoptés par les différents auteurs qui ont spécialement approfondi la question et à l'examen des résultats qu'ils ont obtenus.

A. — IMMUNISATION DE LAPINS

a) Procédé de Uhlenhut : Injection tous les six à huit jours dans la cavité péritonéale d'un lapin, de 10 centimètres cubes de sang de bœuf défibriné ou de sang humain défibriné. Après la troisième injection, le sérum de lapin a acquis le pouvoir de précipiter le sérum de bœuf ou d'homme.

b) Procédé de Wassermann et Schütze : Ces auteurs injectent dans le tissu cellulaire d'un lapin cinq à six fois 10 centimètres cubes de sérum humain, à deux jours d'intervalle.

Une semaine après la dernière injection, l'animal est saigné et le sang conservé pour en extraire le sérum.

Ce sérum a acquis la propriété de précipiter le sang humain même très dilué.

c) Procédé de Binda : Injection sous-cutanée de 1 à 2 cent. cubes de sang défibriné pour un lapin de poids moyen. Ces injections sont répétées chaque jour. Au bout de dix jours, on a un animal suffisamment préparé.

Les autres procédés employés se rapprochent tous plus ou moins de ceux que nous venons de citer.

B. — MANUEL OPÉRATOIRE

a) Expériences de Uhlenhut : Après avoir préparé une série de dilutions aqueuses à 1 p. 100 de sang humain et de dix-huit animaux (bœuf, cheval, âne, porc, mouton, chien, chat, cerf, daim, lièvre, cobaye, rat, souris, lapin, poule, oie, dindon, pigeon), il les soumit à la centrifugation et à la filtration pour enlever les restes des stromas globulaires. De chaque dilution de sérum il prit 2 c.c. et y ajouta un volume égal de solution physiologique double, à 1,6 p. 100, puis il versa ces solutions ainsi préparées dans des tubes à essai de six millimètres de diamètre. Avec une pipette il y ajouta six à huit gouttes de sérum de lapin immunisé par les injections de sang de bœuf défibriné. Le liquide reste clair dans tous les tubes sauf dans celui de sang de bœuf qui devint trouble, et au bout d'un certain temps on vit s'y former un précipité floconneux.

Le mélange de sérum de bœuf et de sérum d'un lapin témoin non vacciné resta limpide. Les mêmes expériences furent faites avec du sérum de lapin immunisé avec du sang humain. Le tube contenant du sang humain fut seul à être troublé. Le sérum normal de lapin n'a pas cette propriété.

b) Expériences de Wassermann et Schütze : ils préparent une dissolution de sang humain dans le liquide physiologique puis ajoutent 1/2 c.c. de sérum de lapin immunisé.

Un précipité blanchâtre floconneux, apparaît au bout de quelques minutes (vingt environ), quelque fois immédiatement. Le résultat est plus rapide dans l'étuve à 37° qu'à la température ordinaire.

Cette propriété est spécifique, c'est-à-dire qu'on n'obtient aucun précipité avec le sang d'un autre animal.

Wassermann et Schütze s'en sont rendus compte en expérimentant sur le sang de vingt-trois animaux (cheval, âne, chèvre, vache, bœuf, veau, mouton, porc, chien, chat, singe, cobaye, lapin, souris, rat, oie, canard, pigeon, poule, moineau, anguille, brochet).

Seul le sang de singe ferait exception à cette règle, en ce sens que le sérum réactif y déterminerait un précipité, toutefois moins abondant et au bout d'un laps de temps plus long.

Wassermann et Schütze remarquèrent que le sérum réactif conservé dans la glace était encore actif au bout de quatorze jours.

Pour les besoins de la pratique médico-légale ces auteurs conseillent de procéder ainsi :

Délayer la matière de la tache à examiner dans 6 à 8 c.c. de solution physiologique, filtrer et partager le liquide obtenu en deux parts qu'on place dans deux tubes stérilisés.

On verse dans l'un des tubes 1/2 c.c. de sérum de lapin immunisé, dans l'autre, qui doit servir de tube témoin, on verse 1/2 c.c. de sérum de lapin non immunisé.

Enfin un troisième tube est rempli d'une dilution de sang d'un autre animal (mouton, porc, chien, etc.). Les trois éprouvettes sont mises à l'étuve à 37°.

Si dans l'espace d'une heure on voit se produire dans le premier tube un trouble puis un précipité tandis que le contenu

des deux autres reste clair, on peut affirmer d'une façon catégorique qu'on se trouve en présence de sang humain.

Ziemke suit le procédé suivant : Il vaccine deux lapins avec du sérum humain (sérum A et B).

Le sang à examiner est mélangé avec 0. 75 p. 100 de solution physiologique ou 0. 1 p. 100 de solution de soude jusqu'à ce qu'on ait une solution à peine rosée. Le sérum est alors ajouté dans la proportion de 1/10. Le sang à l'état sec est traité avec la solution physiologique de NaCl ou de soude qui est plus active. On délaye jusqu'à ce qu'il présente une teinte rosée.

Le tube avec le sérum A est laissé à la température ordinaire, celui avec le sérum B est mis dans l'autoclase à 37°.

C. — RÉSULTATS.

On a successivement examiné du sang frais, du sang desséché, du sang à un degré variable de putréfaction, du sang mélangé à des substances chimiques. Il faut faire remarquer tout d'abord que la réaction est « merveilleusement » sensible. On a pu reconnaître la présence du sang dans des solutions qui ne donnaient rien à l'examen spectroscopique (Corin, Mirto).

La réaction a été positive avec du sang de fœtus. Mertens dit avoir constaté que le sérum de fœtus, provenant d'un lapin immunisé avec de l'urine humaine albumineuse, se montrait actif. Ziemke a fait des expériences multiples ; nous allons en relater quelques unes.

a) Sang frais fluide. On a examiné avec du sérum A le sang de l'homme, du chat, du chien, du cheval, du bœuf, du porc, de la souris, du lapin, du cobaye, etc. Au bout d'un quart d'heure est apparu un trouble dans le sang humain seulement. Vingt-quatre heures après la solution était devenue claire avec, au fond du tube, un précipité comme il s'en forme dans la séro-réaction de la fièvre typhoïde. Le reste de la solution sanguine était claire.

b) Sang desséché. Le sang était à l'état sec et conservé dans une bouteille de verre. Le sang, humain, datait de deux ans. On l'examina avec le sérum A et le sérum B. Trouble intense au bout de vingt-quatre heures, qui se précipite vingt-quatre heures après.

c) Tache de sang sur des tissus. On a examiné des taches de sang humain sur « shirting » datant de 1883, 1878 ; sur gaze, de 1899 ; sur toile, de 1894, et en outre des taches de divers animaux datant de huit semaines.

Les taches traitées par la solution sodique, puis par le sérum A, donnèrent un trouble en quelques heures par le sang humain excepté celui qui datait de 1883, qui était du reste complètement incolore.

Le trouble n'était pas très intense et ne changea pas les jours qui suivirent.

Puis on traita par le sérum B. Les taches de 1883 donnèrent toujours un résultat négatif. Il en fut de même pour la tache sur gaze de 1889 dont la solution était légèrement rosée, ainsi que pour une autre tache de 1876.

La solution de la tache sur toile de 1894 se troubla au bout de trois heures. Le trouble était peu intense mais net, et persista pendant 24 heures.

Les solutions de sang d'animaux restèrent absolument claires, sauf celui de lapin qui montra un trouble très léger.

d) Sang recueilli sur le sol. On a expérimenté sur du sang humain recueilli sur le sol d'un jardin et datant de 1898 et de 1901, et sur du sang d'animaux (bœuf cheval, chat, porc), pris aussi sur le sol d'un jardin et datant de huit semaines.

Après avoir traité par la solution de soude on ajoute le sérum A ; la réaction est positive seulement avec le sang humain. Le trouble était net mais peu intense et persista vingt-quatre heures.

Par le sérum B la solution de sang humain de 1898 reste claire comme celle des animaux.

e) Sang d'un individu mort par l'oxyde de carbone. On a expérimenté sur une tache sur toile datant de huit semaines.

La solution sodique avec sérum A est trouble après une heure. Avec la solution physiologique le résultat est négatif.

f) Taches de sang sur des instruments. Sang recueilli sur la lame d'un couteau rouillé, datant de 1896 ; autre échantillon pris sur la lame non rouillée de 1896. Traité par solution sodique de sérum A on a un trouble de moyenne intensité au bout d'une heure et persistant vingt-quatre heures après.

Solution de rouille en suspension dans l'eau reste claire.

g) Tache de sang après lavage. Ces taches datent de 1888, e'les sont à peine visibles sur la toile.

On traite par solution sodique et sérum A ; quoique faiblement coloré en jaune on a un trouble au bout d'une heure.

Solution de taches de rouille sur linge rëste claire.

h) Sang humain sur le mur d'une cave. Date de 1898. Avec solution sodique et sérum A, comme avec solution physiologique et sérum B, on a un trouble assez net au bout de trois heures.

i) Sang humain sur du bois. Des allumettes tachées de sang depuis un an sont traitées par la solution de soude et le sérum A. Trouble de moyenne intensité au bout de trois heures.

Une branche d'arbre maculée de sang depuis une année, traitée par la solution physiologique et le sérum B. Trouble faible après vingt-quatre heures.

j) Sang humain sur du verre. Quatre gouttes de sang de la grosseur d'une lentille sont desséchées sur un carreau de vitre. Recueillies et traitées par solution sodique et sérum A. Après une heure trouble intense.

k) Taches de sang humain conservées à l'air depuis six mois. Dissolution dans solution sodique et sérum A. Trouble intense au bout de trois heures.

La plupart de ces expériences avaient été faites aussi par Wassermann et Schütze ; les résultats qu'ils ont obtenus ne diffèrent pas de ceux obtenus par Ziemke.

„ Sang d'un cadavre humain mort depuis trois jours. Avec solution physiologique et sérum B trouble intense au bout de quelques minutes, qui au bout de vingt-quatre heures

se dépose au fond du tube en un précipité floconneux. Au dessus la partie fluide est presque clarifiée.

m) Sang en putréfaction. Le sang donnait une odeur infecte. L'expérience a porté sur du sang putréfié d'homme, de pigeon, poule, porc, oie, bœuf. Traité par la solution physiologique et le sérum B, trouble intense après une heure dans le sang humain seulement.

Uhlenhut expérimenta sur du sang putréfié depuis deux mois, provenant de différents animaux. La réaction fut toujours positive. Il filtrait ses solutions par la méthode Berckfeld pour se débarrasser des colonies microbiennes.

Nuttal, Binda, Carrara, arrivèrent au même résultat.

Seul Modica prétendit que la putréfaction très avancée peut empêcher la réaction.

Ses expériences ont été infirmées par celles des auteurs cités plus haut.

De la multiplicité de ces expériences, Ziemke conclut que le sérum d'un lapin vacciné avec du sang humain ne précipite que le sang humain. Il ajoute : avec le sérum A on ne remarque qu'un seul résultat négatif : c'est avec la tache datant de 1883 ; encore faut-il remarquer que cette tache s'est complètement décolorée dans la solution de soude. Avec le sérum B, la séro-réaction se trouve sept fois en défaut, abstraction faite de la tache précédemment citée pour A.

Donc partout le sérum A s'est trouvé supérieur au sérum B et cela s'explique : le lapin B a été vacciné moins longtemps que le lapin A.

Il est à remarquer également que le sérum B donne un léger trouble avec le sang de lapin, comme avec celui de l'animal vaccinant.

En tout cas, là où la réaction se montre positive, elle ne se montre pas toujours avec la même intensité. Plus le sang est frais, plus le précipité est abondant et floconneux. L'intensité du trouble varie avec l'âge du sang.

Tout récemment le Dr Stoenescu, de Bucharest, a présenté à la Société de Médecine légale le résultat de nombreuses expériences « exécutées suivant les indications exposées par le Dr Ziemke ». Il conclut que les sérums spécifiques peuvent être utilement employés en médecine légale, mais, dit-il, il convient de ne formuler les conclusions qu'avec une certaine réserve : on doit se borner à dire qu'il est *probable* que la tâche examinée provient du sang humain.

Les précipités apparaissent d'autant plus vite et sont d'autant plus abondants que les taches sont plus récentes.

L'eau salée physiologique est un bon dissolvant, lorsque les taches ne sont pas trop anciennes. Si le sang est trop ancien, ou, si pour des raisons diverses, il ne peut se dissoudre dans l'eau physiologique, on emploie avec avantage comme dissolvant une solution de soude étendue.

D'un autre côté, nous devons mentionner les conclusions de deux auteurs portugais, da Silva et d'Aguiar, qui avaient été appelés, en juillet 1901, à examiner des taches du sang dans le cas médico-légal Agra, jugé à Guimaraës.

Ayant préparé un lapin avec du sang humain et un autre avec du sang de pigeon, ils examinèrent les taches qui se trouvaient sur la chemise de l'inculpé.

Deux taches donnèrent un résultat positif avec le sérum du lapin immunisé avec du sang humain ; les quatre autres ne donnèrent rien, et cela, d'après les auteurs, parce que

la solution était à peine colorée, les croûtes n'ayant pu être dissoutes dans le liquide physiologique.

Ils conclurent à du sang d'origine humaine seulement pour quelques-unes des taches suspectes.

Tous les auteurs qui ont fait des expériences pour vérifier le principe de la séro-réaction sont d'accord pour admettre que ce principe est exact.

Cependant il faut appeler l'attention sur une note de MM. Lemoine et Linossier, communiquée à l'Académie de Médecine dans la séance du 25 mars 1902.

Il résulte de leurs expériences que les sérums précipitants ne sont pas absolument spécifiques. « En réalité, une même précipitine peut agir sur un très grand nombre de sérums différents ; la sensibilité seule de la réaction varie, les précipités obtenus étant, en général, d'autant moins volumineux que l'animal dont on étudie le sérum est plus éloigné, dans l'échelle des êtres suivants, de celui dont le sang a servi aux injections provocatrices du développement de la précipitation. »

Mais si la réaction n'est pas spécifique dans le sens absolu du mot, il n'en existe pas moins une spécificité relative qui se traduit de deux manières :

1°. En ce que les quantités de précipitine minima nécessaires pour provoquer un trouble dans un sérum donné sont beaucoup moindres quand ce sérum est le sérum correspondant ;

2° En ce que le précipité provoqué par une précipitine dans le sérum correspondant est incomparablement plus volumineux que dans un autre sérum. Aussi peut-on déceler le premier dans une solution assez diluée pour

qu'un autre sérum à la même dilution ne soit pas troublé.

Mais cela n'empêche pas la réaction de Bordet d'être utilisable. Il impose seulement des précautions particulières dans son emploi et, moyennant ces précautions, la réaction reste une conquête précieuse dans le domaine médico-légal et permet d'établir entre les divers corps des différences qu'aucun autre procédé ne peut indiquer avec la même netteté.

Il semble d'ailleurs, ajoutent ces auteurs, qu'une partie au moins des expérimentateurs n'a disposé que de précipitines peu actives, et nous avons vu encore que c'était là une condition favorable à la non-précipitation des sérums autres que le sérum correspondant à la précipitine employée.

M. — AUTRES EXPÉRIENCES DE DIFFÉRENTS AUTEURS.

1. *Mélange de sang d'espèces différentes.* — Il se produit toujours un précipité quand on ajoute le sérum réactif correspondant (Binda, Nuttal, Ziemke).

2. *Influence des substances chimiques.* — Une tache ayant subi l'action d'une solution d'acide borique à 4 p. 100 donna très bien la réaction caractéristique (Binda).

Il en fut de même avec une tache ayant subi l'action d'une solution de sublimé à 1 p. 100. Mais dans ce cas Binda fait remarquer qu'on peut avoir un précipité avant d'ajouter le sérum réactif.

D'après Carrara le cyanure de K, l'ammoniaque, l'acide acétique, les solutions concentrées de potasse et de soude

empêchent la réaction ; l'Hcl, So^4H^2 , laissent former le précipité mais celui-ci n'a plus aucune valeur.

D'après Modica, l'acide phénique à 2 p. 100, le savon ordinaire, n'empêchent pas la réaction, tandis que l'acide nitrique, l'acide chlorydrique, l'acide sulfurique, acétique, lactique, tartrique, citrique, et les solutions à 10 p. 100 de soude, de potasse, d'ammoniaque, l'empêchent de se produire. Mirto a trouvé que l'acide acétique, la soude, la potasse concentrée, le cyanure de K. rendent la réaction de plus en plus difficile, l'ammoniaque l'empêche moins.

Ziemke croit que le cyanure de K empêche la réaction par sa forte alcalinité et conseille de neutraliser avec de l'acide tartrique.

Une solution concentrée de NaCl semble entraver la réaction (Lemoine et Linossier). L'excès d'acide lui est plus nuisible que l'excès d'alcali.

A. *Influence de la chaleur.* — De ses expériences Ferrai conclut que le sang soumis à 130° pendant une heure ; à 150° pendant 10 minutes ; à 160° pendant 5 ou 10 minutes, cesse de donner la réaction. Carrara est du même avis.

De plus, il conclut que le sérum réactif d'un lapin convenablement préparé cesse de donner une réaction positive au bout de quinze jours.

Binda prétend avoir obtenu la réaction avec un sérum réactif dont la préparation datait de sept mois.

Il conclut de ses expériences que l'action de la chaleur peut retarder mais non empêcher la réaction.

D'après Lemoine et Linossier une température de 60° maintenue quatre jours sans interruption n'a pas paru diminuer la sensibilité de la réaction. Une température de 65° pendant vingt-quatre heures l'a empêchée. Mais les taches desséchées peuvent probablement supporter de plus hautes températures.

4. *Influence de la lumière solaire.* — Ne semble pas avoir empêché la réaction (Binda, Modica).

En somme, il semble que l'air, le temps, la température et les substances chimiques aient peu d'influence sur la réaction. Cependant il faut remarquer que les auteurs qui ont étudié l'influence des substances chimiques sont tous d'accord pour noter l'action empêchante du cyanure de K, et des solutions concentrées d'ammoniaque, de potasse et de soude. Il faut peut-être aussi se méfier des acides.

CHAPITRE III

EXPÉRIENCES FAITES AU LABORATOIRE DE MÉDECINE LÉGALE

Au mois de mars, nous avons commencé des expériences au laboratoire de Médecine légale de Lyon.

Nous les rapportons sans prétendre toutefois vouloir y attacher grande importance pour ou contre la méthode de la séro-réaction.

N'étant pas suffisamment outillés pour les mener à bien, nous voulons simplement rapporter les essais que nous avons faits et montrer que cette expérimentation est assez délicate et qu'il n'est pas facile de remplir toutes les conditions nécessaires pour expérimenter d'une façon irréprochable.

Outre l'installation que nécessite l'entretien des lapins, il y a encore des difficultés pour se procurer les quantités de sang nécessaires pour chaque injection.

D'un autre côté il faut remarquer qu'on tombe souvent sur des animaux qui ne résistent guère, tandis que d'autres supportent mieux la série d'injections nécessaires, pour avoir un bon lapin-réactif. Aussi est-il indispensable

d'injecter plusieurs animaux à la fois, ce qui exige un local assez vaste.

D'autres expérimentateurs ont d'ailleurs déjà appelé l'attention sur ce sujet (Lemoine et Linossier, Minovici).

Afin de nous procurer du sang nous nous étions adressé à M. le Dr Commandeur, accoucheur de la maternité de l'Hôtel-Dieu de Lyon, qui a bien voulu nous permettre de disposer des placentas de femmes récemment accouchées.

Ces placentas étaient recueillis le plus tôt possible, mis dans un bocal par les soins des sœurs du service et envoyés au laboratoire de Médecine légale.

Le même jour on exprimait le sang avec les précautions antiseptiques voulues et ce sang était recueilli dans une éprouvette qu'on plaçait ensuite dans un grand cristallisoir plein d'eau à la température ordinaire, faute d'avoir une glacière à notre disposition. On renouvelait l'eau du cristallisoir cinq à six fois dans les vingt-quatre heures.

Le lendemain on recueillait directement le sérum qui était injecté aux lapins.

I. — Le 4 mars nous fîmes une première injection de 10 c.c. dans le tissu cellulaire de la région lombaire ; cinq jours après l'animal succombait. A l'autopsie, aucune lésion locale ni générale qui put expliquer la mort.

II. — Le 15 mars un second lapin reçoit une injection de 10 c.c. dans les mêmes conditions que le précédent.

Le 23 mars nouvelle injection de 10 c.c. Le sérum étant trouble, nous le centrifugeons. Le 27 mars l'animal succombe. Aucune lésion à l'autopsie.

III. — Pour le troisième lapin, nous essayâmes le mode d'injection préconisé par Binda, de Pavie.

29 avril, injection sous-cutanée de 2 c.c.

30 avril, injection sous-cutanée de 2 c.c.

2 mai. Mort du lapin. Pas de lésions.

Ne sachant à quoi attribuer ces insuccès, malgré les précautions antiseptiques prises, nous avons pensé que la façon de recueillir les placentas dans un grand bocal n'était peut-être pas irréprochable au point de vue de l'asepsie d'autant plus que nous ne pouvions surveiller nous-même cette opération.

Notons à ce sujet que le Dr Stoenescu, de Bucharest, a vu succomber tous ses lapins à la suite d'injections sous-cutanées avec du sang provenant du cordon ombilical de nouveau-né. Malgré toutes les précautions prises, les lapins succombaient à la suite d'abcès formés à l'endroit où était pratiquée l'injection.

Ce n'est qu'après avoir employé du sang obtenu par veinesection et injecté par la voie intra-péritonéale qu'il put avoir des animaux suffisamment préparés.

Quant à nous, n'ayant pu avoir du sang provenant de saignées, nous nous adressâmes au chef de service de la clinique obstétricale. M. le Professeur Fochier voulut bien nous accorder l'autorisation nécessaire.

Quand un accouchement se produisait, le sang s'écoulant de la section du cordon était recueilli dans un flacon stérilisé dans une solution bouillante de NaCl.

IV. — Un lapin injecté dans ces conditions, résista.

3 mai, injection 8 c.c.

12 mai, — 10 c.c.

20 mai, — 8 c.c.

29 mai, — 10 c.c.

7 juin, — 8 c.c.

Le 17 juin nous ouvrîmes la veine marginale de l'oreille pour essayer le sérum avant de sacrifier l'animal. Ne pouvant recueillir assez de sang, en examinant le lapin pour faire une saignée à la région inguinale, nous aperçûmes une plaie suppurée à la région abdominale, manifestement produite par la morsure d'un cobaye qui, faute de place, avait occupé la même cage pendant quelques jours.

Le lapin fut immédiatement sacrifié, le cœur droit ouvert et le sang recueilli dans un tube stérilisé.

Ce tube fut placé dans un grand cristallisoir rempli d'eau à la température ordinaire, faute de glacière, afin de laisser décanter le sérum.

Le lendemain celui-ci était coagulé et dans le sang qui se trouvait au fond du tube se trouvaient de nombreux caillots. Comment expliquer ce phénomène, si ce n'est par l'état d'amaigrissement et d'anémie dans lequel était tombé l'animal ?

Nous continuâmes l'expérience. Un dixième de centimètre cube de sang de nouveau-né mort depuis vingt-quatre heures fut dilué dans 50 cent. cubes de solution physiologique. Dans une éprouvette conique de 5 millimètres de diamètre on versa 1/10 de cent. cube de solution et 5/10 de cent. cubes de sérum réactif qui avait été liquéfié au bain-marie.

Il ne se produisit rien au bout de trois heures. Le lendemain, c'est-à-dire vingt-quatre heures après, en examinant le tube, on constata que le sérum s'était de nouveau coagulé et au point de séparation de la solution et du sérum se trouvait un disque comparable au disque d'albumine au point de séparation de l'acide nitrique et d'une urine très albumineuse.

Nous ne continuâmes pas les expériences avec un pareil sérum.

Nous injectâmes un 5^e lapin :

1^{er} juillet : 10 c.c.

9 juillet : 8 c.c.

16 juillet : 10 c.c.

N'ayant pas le temps de poursuivre plus loin nos expériences et le lapin étant très amaigri, fait que nous avons toujours constaté dans le cours de la préparation de ces animaux, nous le sacrifîâmes le 23 juillet ; en ouvrant le cœur droit, nous recueillîmes le sang dont nous séparâmes le sérum comme précédemment.

On examina un linge taché depuis vingt jours du sang d'un cadavre datant de deux jours.

Même dilution que plus haut et même procédé.

Le sérum ne donna rien au bout de vingt-quatre heures.

Nous ne tirerons aucune conclusion d'expériences aussi imparfaites, toutefois nous ferons remarquer qu'un lapin sacrifié sept jours après la troisième injection donna un sérum négatif.

Mais ce que nous voulons surtout signaler à l'attention des expérimentateurs, c'est que :

1° Pour faire ces expériences d'une façon irréprochable, il faut se trouver dans un laboratoire bien outillé au point de vue expérimental ;

2° Qu'il est assez difficile de se procurer du sang recueilli d'une façon aseptique dont on soit sûr et en quantité nécessaire ; il nous a été impossible de nous procurer du sang de saignée dans le service de l'Hôtel-Dieu de Lyon.

3° Qu'il faut injecter un assez grand nombre de lapins à la fois, vu que la résistance de ces animaux aux injections est tout à fait variable (Voir Uhlenhut. *Deutsche Medicine Wochenschrift*, 25 juillet 1901).

CHAPITRE IV

ÉTAT ACTUEL DE LA QUESTION

Nous venons de passer en revue ce qui a été fait pour contrôler le principe de la séro-réaction.

Tous les auteurs qui se sont occupés de la question ont reconnu que le principe de la séro-réaction était exact et que la médecine légale pouvait espérer tirer un grand parti de ce fait de physiologie générale.

Nous allons voir maintenant ce qui a été fait par la suite dans le but d'affermir le principe fondamental du séro-diagnostic et de perfectionner les méthodes pour préparer et pour utiliser le sérum-réactif.

Afin de ne rien omettre, autant que possible, de tout ce que les diverses expériences ont montré être utile dans la préparation du sérum nous adopterons l'ordre suivant :

- I. — Choix de l'animal à injecter.
- II. — Mode d'injection.
- III. — Nombre d'injections nécessaires pour avoir un sérum suffisamment actif.

IV. — Variabilité de la réaction.

V. — Mode de conservation du sérum.

VI. — Difficultés.

I. — CHOIX DE L'ANIMAL A INJECTER.

C'est le lapin qui est généralement choisi pour la préparation du sérum. Il est en effet facilement maniable et peut donner environ 50 c.c. de sérum (Minovici, de Bucharest).

Corin a proposé le chien comme pouvant donner plus de sérum et surtout à cause de sa grande résistance aux injections diverses.

Lemoine et Linossier ont essayé d'injecter des cobayes; mais ils n'ont pas obtenu de sérum suffisamment actif, même après un traitement assez prolongé.

Binda a essayé d'injecter des agneaux: il n'obtient pas de sérum actif malgré un traitement prolongé et à fortes doses.

Aussi est-ce le lapin qui est le plus utilisé.

Uhlenhut fait remarquer qu'il faut en injecter plusieurs à la fois, car outre que quelques-uns peuvent succomber à l'injection, il arrive souvent que certains animaux donnent un sérum utilisable au bout de peu d'injections, tandis que d'autres, après un traitement de longue durée, fournissent un sérum négatif.

Lemoine et Linossier ont observé un lapin dont le sérum n'a rien donné après six injections intra-péritonéales.

II. — MODE D'INJECTION.

Vaut-il mieux injecter du sérum, ou bien du sang défibriné, ou d'autres liquides organiques ?

Est-il préférable d'injecter dans le péritoine, dans les veines, ou sous la peau ?

A. — Pour le liquide à injecter nous avons vu qu'Uhlenhut a fait ses expériences avec du sang défibriné, tandis que Wassermann et Schütze injectaient du sérum de sang humain privé de ses globules.

Les uns préfèrent injecter du sang défibriné pour ne pas perdre le temps nécessaire à la séparation du sérum (Binda) ou bien parce qu'ils ont obtenu des résultats meilleurs (Minovici), d'autres se servent de sérum (Stockis, Lemoine et Linossier) et cela semble préférable si l'on admet avec Nolf que la substance précipitante, due à l'injection du sérum seul, agit sur le sérum, non sur les globules ; l'agglutinine spécifique et l'anticorps produit par la vaccination par les globules isolés portant leur action sur ces derniers uniquement.

En se servant de sang complet on aurait ainsi un développement parallèle des propriétés agglutinantes, hémolytantes et précipitantes.

D'autres auteurs ont essayé d'immuniser des lapins avec des liquides organiques divers.

Leclainche et Vallée, Mertens ensuite, injectèrent à des lapins de l'urine contenant 1 à 2 p. 100 d'albumine et obtinrent un bon sérum réactif.

Toutefois Mertens note que le précipité s'obtient plus

facilement avec le sérum d'animaux immunisés avec du sang humain.

Dieudonné injecta des animaux avec de l'urine albumineuse et d'autres avec du liquide pleurétique, mais lui aussi remarqua que le sérum obtenu avec du sang humain donnait un précipité plus abondant et plus sûr.

Les injections de lait ne semblent pas avoir donné des résultats bien nets (Binda).

On a également essayé des injections de sang de cadavre.

Carrara obtint des résultats négatifs.

Binda remarqua que les animaux injectés avec du sang de sujets ayant succombé à une maladie infectieuse moururent avant la fin du traitement, tandis que ceux injectés avec le sang de sujets ayant succombé de mort violente ou à la suite d'une maladie de très courte durée, donnèrent un bon sérum réactif.

En injectant du sang de cadavre stérilisé avec la méthode de Tyndall, il n'observa aucune infection chez les animaux traités.

Il conseille toutefois d'avoir recours à du sang de placenta.

Après eux, Ziemke, publiant le résultat de nouvelles expériences, dit avoir traité sans aucun inconvénient des animaux avec du sang de cadavre de trois à quatre jours et avoir obtenu un sérum qui n'était pas inférieur à celui obtenu avec du sang d'homme vivant.

Il fait remarquer que le sérum obtenu par injections de liquides organiques, exsudats, etc., ne vaut pas celui obtenu avec des injections de sang.

Blumenthal et Arthus ont employé des liquides d'ascite

ou de pleurésie comme renfermant plus d'albumine que les urines.

Minovici a observé que le sérum obtenu par injection de sang de cadavre frais ou de liquides pleurétiques et amniotiques, agit faiblement.

En somme, la plupart des auteurs préfèrent le sang d'êtres vivants au sang de cadavre et aux autres liquides organiques expérimentés jusqu'ici.

Pour Minovici, les résultats sont meilleurs quand on injecte du sang défibriné que quand on emploie le sérum de sang conservé à la glacière.

Quelques-uns, Lemoine et Linossier entre autres, conseillent de filtrer préalablement sur bougie Chamberland le sérum à injecter, afin de diminuer les chances de péritonite septique.

Aucune expérience n'a été faite pour savoir si le sérum filtré possède les mêmes propriétés vaccinales qu'avant.

Nous devons, avant de terminer cette question du liquide à injecter, rappeler les expériences de Nolf et les conséquences qu'on peut en tirer en pratique.

Nous avons déjà dit plus haut (à la fin du chapitre I) que, d'après Nolf, c'est la globuline seule qui intervient comme substance immunisante et comme substance précipitante ; or, des recherches récentes de Corin, il résulte qu'une série d'injections sous-cutanées à un lapin et à un chien, d'une solution aqueuse de paraglobuline extraite de liquide ascitique de l'homme, a permis d'obtenir un sérum précipitant la macération de sang humain.

« Au point de vue pratique, dit Stockis, ce fait présente une notable importance ; on peut, en effet, préparer très facilement cette globuline immunisante en précipitant du

liquide d'ascite par le sulfate magnésique à 40°, et la conserver pendant un temps très long, soit à l'état sec, soit en dissolution dans l'eau additionnée d'une goutte de chloroforme, tandis que le sang humain doit être fraîchement extrait pour chaque injection immunisante. »

Bien que cette dernière conclusion ne soit pas tout à fait exacte, vu que plusieurs auteurs ont pu immuniser avec succès des animaux avec du sang de placenta desséché (Binda, Nuttall), il n'en est pas moins vrai que cette méthode peut être utile quand on ne peut pas se procurer facilement du sang, surtout que de nos jours l'usage de la saignée est devenu rare et qu'il n'est pas toujours facile d'avoir du sang de placenta recueilli aseptiquement.

Tout récemment (juin 1902), Carrara a proposé de substituer à la globuline les nucléoprotéides extraites des sucs organiques obtenus par macération des organes viscéraux (reins, foie, etc.).

Il a injecté des lapins avec des nucléoprotéides provenant de reins fraîchement enlevés à des chiens et il a constaté que le sérum réactif de lapins ainsi immunisés donnait un précipité caractéristique en présence de solutions de sang de chien.

Toutefois, ces expériences n'ont pas été tentées pour le sang humain ; il paraît en effet assez important de ne se servir que d'organes viscéraux fraîchement enlevés.

Quelle voie d'injection est-il préférable de choisir ?

Uhlenhuth a suivi la voie intra-péritonéale, Wassermann et Schütze, la voie sous-cutanée. Cette dernière diminue les chances de péritonite septique.

Des lapins ayant été injectés les uns par la voie sous-

cutanée, les autres par la voie intra-péritonéale, le sérum réactif des uns et des autres ne présentait aucune différence sensible (Binda).

Leclainche et Vallée ont proposé la voie intra-veineuse. Ferrai pense que les injections intra-veineuses peuvent retarder la production du sérum, Binda n'est pas du même avis : il conseille de se servir d'aiguilles recourbées pour ne pas blesser la face opposée de la veine.

Lemoine et Linossier, Minovici se servent de la voie intra-péritonéale. Ce dernier recommande de faire l'injection comme il suit ; la tête de l'animal est tenue perpendiculairement en bas, afin que de cette façon on protège les organes internes contre la pointe de l'aiguille.

Sur un endroit de la paroi abdominale, on coupe les poils au moyen de ciseaux et l'espace préparé est lavé avec une solution de sublimé à 2/1000. Au moyen de ciseaux stérilisés, on fait une incision dans l'épiderme, on fait pénétrer la pointe de l'aiguille et le contenu est vidé dans la cavité péritonéale. On ferme au collodion.

III. — NOMBRE D'INJECTIONS NÉCESSAIRES POUR AVOIR UN SÉRUM SUFFISAMMENT ACTIF.

Uhlenhut pratiquait cinq injections de 10 c.c. espacées de six à huit jours.

Wassermann et Schütze en faisaient cinq à six de 10 c.c. à deux jours d'intervalle et saignaient une semaine après.

Binda conseille des injections de 1 à 2 c.c. chaque jour ; en dix jours l'animal peut donner un sérum suffisamment actif.

Lemoine et Linossier injectent 10 c.c. tous les six à huit jours ; après quatre ou cinq injections, ils estiment que la préparation est suffisante.

Nous avons observé qu'un lapin qui avait reçu trois injections dont deux de 10 c.c. et une de 8 c.c. et saigné une semaine après, avait donné un sérum qui ne possédait pas la propriété précipitante.

Enfin, notons qu'Uhlenhut a constaté qu'au bout d'un certain nombre d'injections les propriétés du sérum diminuent au lieu d'augmenter. Il semble qu'il existe un maxima qu'il ne faut pas dépasser.

Binda a fait les mêmes constatations.

IV. — VARIABILITÉ DE LA RÉACTION.

Nous avons déjà vu que la réaction n'était guère empêchée par les différentes causes extérieures (température, agents chimiques, etc.).

Il faut toutefois signaler certains faits qui, s'ils ne détruisent pas la spécificité de la réaction, doivent du moins être retenus en pratique et imposer une certaine réserve au médecin légiste appelé à poser des conclusions, du moins jusqu'à nouvel ordre.

Plusieurs expérimentateurs ont vu la même précipitine agir sur les sérums d'homme et de singe, de chat et d'âne, du poulet et du pigeon, du cochon et du sanglier, du renard et du chien, du mouton et de la chèvre.

La spécificité marcherait donc parallèlement avec la spécificité des espèces dans la série animale.

Les expériences de Lemoine et Linossier avaient même prouvé que la même précipitine pouvait troubler les sérums de plusieurs animaux plus ou moins rapprochés dans l'échelle zoologique. Cependant ils avaient également observé d'une façon constante que le précipité provoqué par une précipitine dans le sérum correspondant est incomparablement plus volumineux que dans un autre sérum et qu'on pouvait déceler le premier dans une solution assez diluée, pour qu'un autre sérum à la même dilution ne fut pas troublé; ce qui fait que le procédé conserve toute sa valeur et est en tous cas le meilleur de ceux que nous possédons aujourd'hui pour diagnostiquer la présence du sang humain.

Il sera d'ailleurs toujours possible de préparer des animaux injectés avec le sang de l'espèce animale indiquée par l'accusé et il sera ainsi possible de constater que le précipité obtenu est toujours plus abondant et plus vite obtenu qu'avec n'importe quelle espèce voisine dans la série animale.

Voyons maintenant comment devra être faite la solution de sang à examiner.

Tous les auteurs se sont servis de la solution physiologique. Aucun des premiers expérimentateurs n'a indiqué le titre de la solution sanguine à examiner. Or, nous avons vu quelle importance cela pouvait avoir, d'après les expériences de Lemoine et Linossier.

Nous rapportons ici une de leurs expériences qui prouve l'importance qu'il y a à faire agir le sérum-réactif sur une dilution convenable :

« Les urines albumineuses de l'homme ne sont précipitées normalement que par la précipitine correspondante.

Or, nous avons eu l'occasion d'observer une urine exceptionnellement riche en albumine, provenant d'un malade du service de M. Chauffard (elle en renfermait 55 grammes par litre). Cette urine précipitait non seulement par la précipitine humaine, mais aussi par la précipitine de bœuf. En la diluant au dixième, la précipitine de bœuf n'y donnait plus le moindre trouble, tandis que, dans la dilution au centième, la précipitine humaine donnait encore une réaction d'une grande netteté.

Il faut donc ne faire agir le sérum-réactif que sur des solutions sanguines assez étendues pour n'être précipitables que par la précipitine correspondante. »

Ces auteurs ont observé que le sérum au millième était toujours troublé très nettement par la précipitine correspondante et jamais par une autre précipitine.

« On pourrait réaliser à peu près une telle solution en dissolvant la tache dans 2.500 parties d'eau, mais comme la dissolution d'une tache ancienne peut être incomplète, il sera peut-être préférable, si la quantité de sang recueilli le permet, de faire plusieurs dilutions de concentrations diverses et d'essayer sur chacune l'effet du sérum-réactif. »

Minovici conseille de faire macérer la tache dans une solution physiologique de NaCl jusqu'à ce que la solution devienne rougeâtre : filtrer ensuite. Puis on mêle 2 centimètres cubes de la solution ainsi faite avec 8 à 10 gouttes de sérum. On a ainsi un précipité floconneux en une demi-heure. Plus la tache de sang était récente plus vite il a obtenu le précipité.

Pour Lemoine et Linossier la proportion de sérum actif devra toujours être en grand excès par rapport au sérum précipitable.

La température optima semble être 35°.

Pour admettre la réaction comme sûrement positive ces auteurs exigent qu'elle ait commencé à se produire dans l'espace de une à deux heures au maximum.

V. — *Mode de conservation du sérum.*

La conservation des sérums précipitants a, dès le début, préoccupé les différents expérimentateurs.

La préparation du sérum-réactif n'étant possible que dans un laboratoire muni d'un outillage assez complet, on comprend qu'il était de toute nécessité de rechercher par quels moyens on pouvait mettre à même chaque médecin légiste d'utiliser la séro-réaction, surtout pour ceux qui se trouvaient éloignés des grands centres.

Bien que la question soit loin d'être résolue il est bon d'indiquer ici les résultats auxquels on est arrivé.

Uhlenhut dit qu'il a observé que le sérum réactif peut supporter l'addition de substances conservatrices (acide phénique à 0,5 p. %) sans perdre sa propriété précipitante, cependant il préfère se servir de sérum frais.

Wassermann et Schütze ont vu que le sérum restait actif le quatorzième jour, quand il était conservé à la glacière.

Binda dit que le sérum peut être conservé à l'état liquide pendant des mois si on a eu soin de le répartir dans des éprouvettes et qu'on l'ait stérilisé ensuite par la méthode de Tyndall; maintenir ensuite à l'abri de la lumière, entre 5 et 15°.

Ziemke, préoccupé tout d'abord du développement des

colonies microbiennes qui pouvaient troubler la limpidité du sérum, proposa de le filtrer par la méthode de Berckfeld.

Uhlenhut l'avait déjà employée avant lui. Puis, devant la perte de temps que nécessitait ce mode de conservation, il proposa de le mettre dans de petits tubes bouchés avec un tampon de ouate imbibée d'une solution de formol à 1/1000, ou bien d'y ajouter de l'acide phénique.

Binda doute que le développement des bactéries puisse troubler le sérum au point de masquer le précipité caractéristique, du moins pour un observateur exercé.

D'après les expériences récentes de Ziemke, il résulterait que l'emploi du chloroforme serait utile pour la conservation du sérum, bien qu'il ait constaté que l'activité diminue, et il conclut que toutes les fois qu'on le pourra il est préférable de se servir de sérum frais.

De son côté, Corin, s'appuyant sur les expériences de Nolf, a fait des recherches qui ont abouti à un résultat intéressant.

Le sérum d'un chien vacciné contre le sang humain a été précipité par le sulfate magnésique. Le précipité formé par la paraglobuline a été conservé sur papier filtre pendant deux mois à la température ordinaire, puis dissous dans le sérum physiologique; mis en présence du sang humain, il a donné la séro-réaction.

Stockis recommande le détail de technique suivant : placer le mélange (macération de la tache à examiner et sérum-réactif) non pas à la température ordinaire ou à l'étuve à 37°, mais au bain-marie à 40 ou 42°; le précipité apparaît dans ces conditions beaucoup plus rapidement en cinq ou dix minutes et bien plus net. C'est un précipité grisâtre, granuleux, qui ne ressemble en rien à un coagu-

lum, lequel, du reste, ne se forme par la paraglobuline qu'au delà de 70°.

Plusieurs auteurs pensent que c'est là un bon procédé. Modica, Minovici et d'autres préconisent cette méthode de conservation.

On pourrait encore essayer de remplir des tubes qu'on scellerait à la flamme.

Arthus a vu que le fluorure de sodium à la dose de 1 p. 100 n'empêche pas la réaction de se produire.

Lemoine et Linossier préfèrent se servir de sérum frais. Il semble donc que la question n'est pas près d'être résolue.

Il faut ajouter que cette question de la conservation du sérum précipitant n'a pas la même importance que pour les sérums thérapeutiques (antidiphtérique, antitétanique, etc.) qu'on doit avoir sous la main dès que le diagnostic est posé ; tandis que pour une tache on a toujours du temps devant soi et il est toujours possible de l'envoyer dans un laboratoire spécial.

VI. — DIFFICULTÉS.

Par cet aperçu rapide de ce qui a été fait au sujet de la séro-réaction, on voit qu'il n'est pas facile d'expérimenter en remplissant toutes les conditions nécessaires à la préparation d'un bon sérum-réactif.

Nous avons vu que tous les auteurs ont reconnu que c'est le sang frais qui est préférable pour immuniser les animaux-réactifs. Le D^r Stoenescu a vu succomber tous ses lapins tant qu'il ne s'est pas servi de sang provenant de veine section.

Or, il n'est pas facile de s'en procurer en quantité suffisante et être sûr en même temps qu'il ait été recueilli aseptiquement, surtout aujourd'hui qu'on n'emploie plus guère la saignée (il nous a été impossible de nous en procurer à l'Hôtel-Dieu) et que la ventouse scarifiée est moins en vogue qu'autrefois ; il faudrait d'ailleurs en appliquer un certain nombre pour avoir une quantité de sérum suffisante pour injecter une série de lapins.

Quant à l'injection des lapins, plusieurs auteurs ont constaté les différences qui existent entre ces animaux dans la manière de réagir au traitement ; il faudra donc en injecter plusieurs à la fois, ce qui exige un local assez vaste dont on ne dispose pas toujours dans les laboratoires, surtout dans ceux de médecine légale.

Nous avons remarqué que ces animaux maigrissaient tous notablement dès qu'ils avaient reçu quelques injections. Minovici recommande de leur procurer une nourriture abondante et consistant surtout en légumes frais : choux, salade, etc. Cela coûterait assez cher.

Les frais seront d'autant plus élevés que jusqu'ici on n'a pas encore réussi à conserver le sérum d'une façon parfaite et nous avons vu que presque tous les auteurs recommandent de se servir de sérum frais si l'on veut obtenir des résultats certains. Tout cela exige qu'on ait des lapins en cours de préparation d'une façon constante, ce qui exigera une consommation importante de ces animaux ; nous avons, en effet, noté plus haut qu'Uhlenhut avait remarqué qu'après un certain nombre d'injections, le pouvoir du sérum allait en diminuant.

Enfin, même quand on disposera d'un bon sérum réactif, il faudra des expérimentateurs habitués à ces manipu-

lations pour ne pas commettre des erreurs qui auraient une gravité considérable. Rappelons à ce sujet les expériences de Lemoine et Linossier sur la dilution de la solution à examiner et sur l'activité plus ou moins marquée des précipitines.

Ces travaux délicats devront être centralisés dans les instituts, dit Frœnkel, et il sera nécessaire d'une grande expérience et d'une installation particulière. Minovici est du même avis. La préparation de ce sérum, dit-il, n'est pas facile et demande des conditions spéciales, qu'on ne peut avoir dans un laboratoire quelconque (soins particuliers des animaux, expérimentateurs exercés, etc.). Il faudrait une installation spéciale et des laboratoires spéciaux pourvus des choses nécessaires.

Citons avant de terminer les conclusions d'un récent article de Barthe, de Bordeaux, qui a fait des expériences multiples. Il a trouvé deux résultats discordants avec du sérum de sang de bœuf et qu'il n'a pas pu expliquer. De plus, il a remarqué que la sensibilité de la réaction en ce qui concerne la diagnose des taches de sang plus ou moins anciennes a des limites qu'il est actuellement bien difficile de déterminer.

Dans un article paru il y a quelques jours il dit : « Il demeure entendu que seule (la réaction d'Uhlenhut), elle ne suffirait pas à affirmer la présence du sang et encore moins à affirmer l'origine de ce sang. A notre avis elle prend place avant l'examen microscopique des hématies et surtout avant leur mensuration. Entre les mains d'un expert prudent et habile elle peut faciliter le diagnostic du sang humain. »

CONCLUSIONS

I. — Le principe de la séro-réaction paraît exact et appelé à un grand avenir. Tous les expérimentateurs sont d'accord sur ce point.

Le procédé est certainement supérieur à tous ceux que nous possédons actuellement pour déterminer l'origine du sang.

II. — Cependant il y a beaucoup à faire avant qu'il puisse entrer dans la pratique courante.

On n'a pas encore fixé une méthode sûre et précise sur laquelle tout le monde soit d'accord, quand il s'agit de déterminer l'origine d'une tache de sang.

III. — La préparation du sérum réactif est délicate et demande des expérimentateurs compétents. Elle n'est possible que dans des laboratoires spéciaux et disposant de ressources importantes.

IV. — Il n'est pas possible actuellement d'exiger de tout médecin légiste qu'il se serve de cette réaction quand il aura à déterminer l'origine d'une tache de sang.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,
LACASSAGNE.

Vu :

LE DOYEN,
LORTET.

Vu et permis d'imprimer :

LE RECTEUR DE L'ACADÉMIE,
Président du Conseil de l'Université
G. COMPAYRE.

BIBLIOGRAPHIE

- BECCARI. — *Lo Sperimentale*, 1902.
- BELFANTI e CARBONE. — *Giornale della R. Accad. di Med. di Torino*, a. LXV, série IV, vol. IV, 1898.
- BIERRY. — Comptes rendus de l'Acad. des Sciences, mai 1902.
- BINDA (C.). — *Giornale di Medicina legale*, n° 6, 1901, Pavie.
- BORDET. — *Annales de l'Institut Pasteur*, 1895, 1896, 1898, 1899, 1900, 1901.
- BÜCHNER. — XI^e Congrès de médecine interne, Leipzig, 1892, *Deutsche Medicin. Wochensch.*, 1892, p. 484.
- Jean CAMUS et PAGNIEZ. — Comptes rendus de la Société de Biologie, 2 mars 1901.
- CARRARA. — *L'Arte Medica*, 18 et 25 août 1901.
- *Rivista critica di Clinica medica*, n° 37, 1902.
- CASTAIGNE et RATHERY. — *Société de Biologie*, mai 1902.
- CHEINISSE. — *Semaine médicale*, n° 9, 1901.
- CHIROKIKH. — *Vratsch*, 1901, XXII, p. 905-906.
- CORIN. — *Société de Médecine légale de Belgique*, 27 avril 1901.
- *Annales de la Société médico-chirurgicale de Liège*, n° 5, mai 1901.
- *Archives d'anthr. criminelle*, n° 94, 15 juillet 1901.
- DEUTSCH. — XIII^e Congrès internat. de médecine, Paris, 1900.
- DESCOS (André). — *Province médicale*, 5 octobre 1901.
- DIEUDONNÉ (A.). — *Münchener Medicin. Woschenchr.*, avril 1901.
- FARNUM. — *Journal of the Americ. Med. Assot.*, 28 déc. 1901.
- *Semaine médicale*, février 1901.

- FERRAI. — *Bollettino della R. Académia medica di Genova*, n° 7, 1901.
- FERREIRA DA SILVA (A.-F.) e ALBERTA D'AGUIAR. — Examen des taches de sang (*Caso médico-légal Agra, em. Guimaraes*, julho 1901), Porto, 1902.
- FISCH. — Studies ou lactosérum, Saint-Louis, *Courier of medic.*, 1900.
- FLORENCE. — Thèse de Lyon, 1885.
- GALEOTTI. — *Lo Sperimentale*, 1900.
- HERLITZE e BORRINO. — *Giornale della R. Academie de Medicina di Torino*, 1902, n° 6-7.
- HUISKAMP. — *Zeitschrift f. physiol. Chemie*, 1901.
- JACCOUD et DECHAMBRE. — Dictionnaire.
- LACASSAGNE. — Vade-mecum (traduct. italienne par le D^r Guerrieri).
- LEMOINE et LIÑOISSIER. — *Bulletin de l'Académie de Médecine*, séance du 25 mars 1902.
- LINDEMANN. — *Annales Institut Pasteur*, 1900.
- MAGNANINI (R.). — *Boll. della Soc. Lâncisiana degli Ospedali di Roma*, a. XVIII, 1898.
- MASSON. — Origine du sang (*Annales d'hygiène publique*, 1885).
- MICHAELIS. — *Arte Medica*, 1902, n° 23.
- MINOVICI (de Bukarest). — *Deutschen Medicinischen Wosch.*, 1902.
- MODICA (O.). — *Giornale della R. Academia di Medicina di Torino*, agosto-settembre 1901.
- MIRTO. — *Riforma Medica*, 24 et 25 septembre 1901.
— *Roma*, a. XVI, vol. III, p. 855.
- MORESCHI. — *Clinica Moderna*, 6 novembre 1901.
- NEDRIGAILOV. *Vratsch*, 1901, XXII, p. 1901.
- NÉFÉDIEFF. — *Annales Institut Pasteur*, 1901.
- NOBELE (DE). — *Annales de la Société de médecine légale de Gand*, 1901.
- NOLF. — Globulolyse et pression osmotique, *Annales Institut Pasteur*, 1900.
— Contribution à l'étude des sérums antihématiques,

Annales Institut Pasteur, 1900.

NUTTAL. — *The Journal of Hygiene*, juillet 1901.

OBERMEIER u. PICK. — *Wiener Klinische Rundschau*, 1902, n° 15.

OGIER. — *Semaine médicale*, n° 20, 8 mai 1902.

OGIER et HERSCHER. — *Société de médecine légale*, 15 avril 1901.

PADUA (A. DE), Ch. LEPIERRE et A. VIEIRA-MARTINS. — *Movimento medico*, I, janvier 1901, II, mai 1902, Université de Coimbra.

REMH (Jules). — *Comptes rendus de la Société de Biologie*, 23 mars 1901.

SNYERS. — *Centralbt. f. Bacteriologie*, 1900, n°s 8-9.

STERN. — *Deutsche Medicin. Wochenschrift*, n° 9, 28 fév. 1901.

STOCKIS (Eug.). — *Annales de la Société médico-chirurgicale de Liège*, mai 1901.

STENESCU (D^r) (de Bukarest). — *Annales d'hygiène publique et de médecine légale*, septembre 1902.

TARCHETTI (C.). — *Gazzetta degli Ospedali et delle Cliniche*, n° 60, 1901.

TCHISTOVITCH. — *Annales Institut Pasteur*, 1899.

UHLENHUT. — *Deutsche Medicin. Wochenschrift*, n° 46, 1900.

— *Id.*, n° 6, 7 février 1901.

— *Id.*, n° 17, 25 avril 1901.

— *Id.*, n° 30, 25 juillet 1901.

— *Id.*, n° 50, p. 499.

UMBERT. — *Berliner klinische Wochenschr.*, 1902, n° 24.

WASSERMANN et SCHUTZE. — *Berliner klinische Wochenschr.*, n° 7, 18 février 1901.

ZIEMKE (E.). — *Deutsche Medicin. Wochenschr.*, n° 26, 27 juin 1901.

— *Id.*, n° 42, 17 octobre 1901.

— Zur Unterscheidung von Menschen und Thierblut mit Hilfe eines spezifischen serums.

BARTHE. .. *Bulletin de la société de Pharmacie de Bordeaux*, février-mars-octobre 1902.

LYON

IMPRIMERIE A. STORCK ET C^{ie}

Rue de la Méditerranée, 8
